

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号
特開2001-343386
(P2001-343386A)

(43) 公開日 平成13年12月14日 (2001. 12. 14)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-ロ-ド [*] (参考)
G 0 1 N 33/53		G 0 1 N 33/53	M 2 G 0 5 8
C 1 2 M 1/00		C 1 2 M 1/00	A 4 B 0 2 4
C 1 2 N 15/09		G 0 1 N 33/566	4 B 0 2 9
G 0 1 N 33/566		35/02	F
35/02		37/00	1 0 2
審査請求 未請求 請求項の数15 O L (全 15 頁) 最終頁に続く			
(21) 出願番号	特願2000-322963 (P2000-322963)	(71) 出願人	000004064 日本碍子株式会社 愛知県名古屋瑞穂区須田町2番56号
(22) 出願日	平成12年10月23日 (2000. 10. 23)	(72) 発明者	廣田 寿一 愛知県名古屋瑞穂区須田町2番56号 日 本碍子株式会社内
(31) 優先権主張番号	特願平11-301627	(72) 発明者	大西 孝生 愛知県名古屋瑞穂区須田町2番56号 日 本碍子株式会社内
(32) 優先日	平成11年10月22日 (1999. 10. 22)	(74) 代理人	100077665 弁理士 千葉 剛宏 (外1名)
(33) 優先権主張国	日本 (J P)		
(31) 優先権主張番号	特願2000-89971 (P2000-89971)		
(32) 優先日	平成12年3月28日 (2000. 3. 28)		
(33) 優先権主張国	日本 (J P)		

最終頁に続く

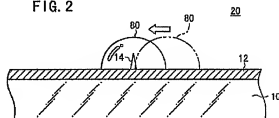
(54) 【発明の名称】 DNAチップ及びその製造方法

(57) 【要約】

【課題】 分注装置のずらし幅や滴下ノズルの配列ピッチにばらつきがあったとしても、基板上に形成される多数の微小スポットの配列状態を規定の配列ピッチに沿った状態にさせる。

【解決手段】 基板10上に試料溶液の滴下による微小スポット80が多数形成されたDNAチップ20において、基板10の表面に親水性を有するpoly-L-lysine層12を形成し、該基板10上のうち、微小スポット80が形成されるべき位置の各中心部分にそれぞれ突起14を形成して構成する。

FIG. 2



【特許請求の範囲】

【請求項1】基板上に試料溶液の供給による微小スポットが多数形成されたDNAチップにおいて、前記基板は、前記微小スポットの位置ずれを自動的に補正する位置ずれ補正手段を有することを特徴とするDNAチップ。

【請求項2】請求項1記載のDNAチップにおいて、前記位置ずれ補正手段は、前記基板のうち、前記微小スポットが形成されるべき位置に形成された突起であることを特徴とするDNAチップ。

【請求項3】請求項1記載のDNAチップにおいて、前記位置ずれ補正手段は、前記基板のうち、前記微小スポットが形成されるべき位置に形成された親水性領域とそれ以外の部分に形成された撥水性領域とで構成されていることを特徴とするDNAチップ。

【請求項4】請求項1記載のDNAチップにおいて、前記位置ずれ補正手段は、前記基板のうち、前記微小スポットが形成されるべき位置に形成された凹部であることを特徴とするDNAチップ。

【請求項5】請求項1記載のDNAチップにおいて、前記位置ずれ補正手段は、前記基板のうち、前記微小スポットが形成されるべき部分とそれ以外の部分とで表面状態を異ならせることで構成されることを特徴とするDNAチップ。

【請求項6】請求項1記載のDNAチップにおいて、前記位置ずれ補正手段は、前記基板のうち、前記微小スポットが形成されるべき部分を、前記試料溶液とは逆の帯電状態とさせる電界発生手段を有することを特徴とするDNAチップ。

【請求項7】試料溶液を基板上に多数供給してDNAチップを製造するDNAチップの製造方法において、前記基板として、前記試料溶液の供給による微小スポットの位置ずれを自動的に補正する位置ずれ補正手段を有する基板を用いてDNAチップを製造することを特徴とするDNAチップの製造方法。

【請求項8】請求項7記載のDNAチップの製造方法において、前記試料溶液を、供給装置を用いてインクジェット方式で供給することを特徴とするDNAチップの製造方法。

【請求項9】請求項8記載のDNAチップの製造方法において、前記供給装置は、少なくとも1個以上の基体に、外部から前記試料溶液を注入するための注入口と、前記試料溶液が注入・充填されるキャピティと、前記試料溶液を吐出する吐出口とが形成され、前記キャピティを形成する前記基体の少なくとも一壁面に圧電/電圧素子を備え、前記キャピティ内において前記試料溶液が移動するように構成されたマイクロピペットが複数配列されて構成され、かつ、各マイクロピペットの吐出口からそれぞれ異なる種類の試料溶

液が吐出される分注装置であることを特徴とするDNAチップの製造方法。

【請求項10】請求項9記載のDNAチップの製造方法において、前記分注装置は、前記キャピティ内において前記試料溶液が層流で移動するように構成されたマイクロピペットが複数配列されて構成されていることを特徴とするDNAチップの製造方法。

【請求項11】請求項7～10のいずれか1項に記載のDNAチップの製造方法において、前記位置ずれ補正手段は、前記基板のうち、前記微小スポットが形成されるべき位置に形成された突起であることを特徴とするDNAチップの製造方法。

【請求項12】請求項7～10のいずれか1項に記載のDNAチップの製造方法において、前記位置ずれ補正手段は、前記基板のうち、前記微小スポットが形成されるべき位置に形成された親水性領域とそれ以外の部分に形成された撥水性領域とで構成されていることを特徴とするDNAチップの製造方法。

【請求項13】請求項7～10のいずれか1項に記載のDNAチップの製造方法において、前記位置ずれ補正手段は、前記基板のうち、前記微小スポットが形成されるべき位置に形成された凹部であることを特徴とするDNAチップの製造方法。

【請求項14】請求項7～10のいずれか1項に記載のDNAチップの製造方法において、前記位置ずれ補正手段は、前記基板のうち、前記微小スポットが形成されるべき部分とそれ以外の部分とで表面状態を異ならせることで構成されることを特徴とするDNAチップの製造方法。

【請求項15】請求項7～10のいずれか1項に記載のDNAチップの製造方法において、前記位置ずれ補正手段は、前記基板のうち、前記微小スポットが形成されるべき部分を、前記試料溶液とは逆の帯電状態とさせる電界発生手段を有することを特徴とするDNAチップの製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、顕微鏡スライドガラス等の基板上に、数千から一万種類以上の異なる種類のDNA断片を微小スポットとして高密度に整列固定させたDNAチップ（DNAマイクロアレイ）及びその製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】近年における遺伝子構造の解析方法の進歩にはめざましいものがあり、ヒトの遺伝子をはじめと、多数の遺伝子構造が明らかにされてきている。このような遺伝子構造の解析には、顕微鏡スライドガラス等の基板上に数千から一万種類以上の異なる種類のDNA断片を微小スポットとして整列固定させたDNAチッ

ブ(DNAマイクロアレイ)が用いられるようになってきている。

【0003】このDNAチップの製造における微小スポットの形成方法としては、QUILL方式、ピン&リング方式、あるいはスプリングピン方式といった、いわゆるピンによる基板上へのDNA断片を含んだ試料溶液の接触供給を行う方式が広く用いられており、いずれの方法を採用した場合であっても、各微小スポットの容量と形状のばらつきを低く抑えて、各微小スポット間の距離を一定に保つことが重要となる。

【0004】一方、更なる高密度化に向けて、微小スポットの形状制御性が良好であり、生産性に優れた新しい方法の開発に対する期待も大きい。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】ところで、基板上に試料溶液の供給(滴下を含む)による多数の微小スポットを形成する場合、多数の供給ノズル(ピンやスプリングピン等)が例えばマトリクス状に配列された分注装置を用いて行うようにしている。

【0006】通常、基板上に形成される微小スポットの配列ピッチよりも供給ノズルの配列ピッチが大きいため、分注装置での供給位置をずらしながら試料溶液を供給するようにしている。

【0007】このとき、分注装置のずらし幅や、供給ノズルの配列ピッチにばらつきがあった場合、そのばらつきがそのまま微小スポットの配列状態に反映してしまい、隣接する微小スポット同士が合流して1つのスポットを形成してしまうというおそれがある。

【0008】一方、プリンタにおいて実用化されている、いわゆるインクジェット方式を用いたスポッティングする方も検討されているが、インクジェット方式の供給装置を用いた場合、吐出滴の方向が曲がる、いわゆる飛行曲がりや、サテライトと称する不要な吐出滴などの影響で隣接する微小スポット同士が合流して1つのスポットを形成してしまうおそれがある。

【0009】本発明はこのような課題を考慮してなされたものであり、分注装置のずらし幅や供給ノズルの配列ピッチにばらつきがあったとしても、また、インクジェット方式の供給装置を用いた場合において、飛行曲がりやサテライトによる吐出滴の位置ずれがあったとしても、基板上に形成される多数の微小スポットの配列状態を規定の配列ピッチに沿った状態にさせることができるDNAチップを提供することを目的とする。

【0010】また、本発明の他の目的は、分注装置のずらし幅や供給ノズルの配列ピッチにばらつきがあったとしても、また、インクジェット方式の供給装置を用いた場合において、飛行曲がりやサテライトによる吐出滴の位置ずれがあったとしても、基板上に形成される多数の微小スポットの配列状態を規定の配列ピッチに沿った状態にさせることができ、DNAチップの品質の向上並び

に歩留まりの向上を図ることができるDNAチップの製造方法を提供することにある。

【0011】

【課題を解決するための手段】本発明は、基板上に試料溶液の供給による微小スポットが多数形成されたDNAチップにおいて、前記基板上、前記微小スポットの位置ずれを自動的に補正する位置ずれ補正手段を設けて構成する。

【0012】これにより、基板上に試料溶液を供給した際に、その供給位置が規定の位置からずれていたとしても、前記試料溶液の供給による微小スポットは、前記位置ずれ補正手段によって、前記規定の位置に移動し、その位置ずれが補正されることになる。

【0013】このように、本発明に係るDNAチップにおいては、分注装置のずらし幅や供給ノズルの配列ピッチにばらつきがあったとしても、また、インクジェット方式の供給装置を用いた場合において、飛行曲がりやサテライトによる吐出滴の位置ずれがあったとしても、基板上に形成される多数の微小スポットの配列状態を規定の配列ピッチに沿った状態にさせることができる。

【0014】また、本発明は、試料溶液を基板上に多数供給してDNAチップを製造するDNAチップの製造方法において、前記基板として、前記試料溶液の供給による微小スポットの位置ずれを自動的に補正する位置ずれ補正手段を有する基板を用いてDNAチップを製造することを特徴とする。

【0015】これにより、分注装置のずらし幅や供給ノズルの配列ピッチにばらつきがあったとしても、また、インクジェット方式の供給装置を用いた場合において、飛行曲がりやサテライトによる吐出滴の位置ずれがあったとしても、基板上に形成される多数の微小スポットの配列状態を規定の配列ピッチに沿った状態にさせることができ、DNAチップの品質の向上並びに歩留まりの向上を図ることができる。

【0016】そして、前記試料溶液をインクジェット方式の供給装置を用いて供給することが好ましい。この場合、前記供給装置は、少なくとも1個以上の基体に、外部から前記試料溶液を注入するための注入口と、前記試料溶液が注入・充填されるキャビティと、前記試料溶液を吐出する吐出口とが形成され、前記キャビティを形成する前記基体の少なくとも一壁面に正電/電歪素子を備え、前記キャビティ内において前記試料溶液が移動するように構成されたマイクロピペットが複数配列されて構成され、かつ、各マイクロピペットの吐出口からそれぞれ異なる種類の試料溶液が吐出される分注装置であることが好ましく、更には、前記試料溶液の移動が滞流であることがより好ましい。

【0017】インクジェット方式では、高速で微小スポットを形成でき、吐出滴のスピード、液量を自由に設定できるため、微小スポットを規定の液量/形状に正確に

形成でき、各微小スポット間のばらつきが、ピンやスプリングピンで行う方式と比較して少ないという利点がある。

【0018】また、インクジェット方式は、ピン式と異なり、非接触で微小スポットを形成するため、位置ずれ補正手段と物理的な干渉、接触がなく、好適に使用できる。

【0019】更に、インクジェット方式が有するスポット量、吐出速度等の設計の自由度に関しては、前記位置ずれ補正手段とのマッチングをとりやすいという利点も有する。即ち、位置ずれ量が大きい場合、大きく補正しななければならないときは、例えば吐出量、吐出速度を増して基板上でのスポットの広がりを大きくすることで、位置ずれ補正手段と接触しやすくし、位置ずれ補正を確実に行わせることができるといった利点がある。

【0020】上述の位置ずれ補正手段としては、前記基板のうち、前記微小スポットが形成されるべき位置に形成された突起であってもよく、前記基板のうち、前記微小スポットが形成されるべき位置に形成された親水性領域とそれ以外の部分に形成された撥水性領域とで構成されるものでもよい。

【0021】また、上述の前記位置ずれ補正手段としては、前記基板のうち、前記微小スポットが形成されるべき位置に形成された凹部であってもよく、前記基板のうち、前記微小スポットが形成されるべき部分とそれ以外の部分とで表面状態を異ならせるようにしてもよい。

【0022】また、上述の前記位置ずれ補正手段としては、前記基板のうち、前記微小スポットが形成されるべき部分を、前記試料溶液とは逆の帯電状態とさせる電界発生手段を有するようにしてもよい。

【0023】例えば、試料溶液が負に帯電（マイナスチャージ）しているとき、前記微小スポットが形成されるべき部分を前記試料溶液とは逆の帯電状態、即ち、正の帯電状態（プラスチャージの状態）にさせる電界発生手段を有するようにすると、規定の位置に確実にスポットを形成することが好適である。なお、試料溶液がプラスチャージの状態である場合は、微小スポットが形成されるべき部分をマイナスチャージの状態にすればよい。

【0024】更に、試料溶液を供給する方式としてインクジェット方式を用いた場合、非接触で微小スポットを形成することができ、電界方向に滴の吐出方向が揃い、かつ、電界で滴下位置の補正がやりやすくなるため、好適に使用することができる。

【0025】また、試料溶液がDNA断片を含む溶液の場合、電界による位置ずれ補正効果をより有効とすること、DNA断片に電荷を付加する官能基を付けること、あるいは電荷をもった溶液中にDNA断片を分散させることも好ましい。

【0026】

【発明の実施の形態】以下、本発明に係るDNAチップ及びその製造方法の実施の形態を図1～図19Bを参照しながら説明する。

【0027】本実施の形態に係るDNAチップ20は、図1に示すように、基板10上に試料溶液の供給（滴下を含む）による微小スポット80が多数配列されて構成されている。特に、基板10上には、前記微小スポット80の位置ずれを自動的に補正する位置ずれ補正手段が設けられている。

【0028】具体的には、図2に示すように、基板10は、その表面に親水性を有するpoly-L-lysine層12が形成され、該基板10上のうち、微小スポット80が形成されるべき位置の各中心部分にそれぞれ突起14が形成されている。これら突起14が位置ずれ補正手段として機能することになる。

【0029】即ち、図2に示すように、基板10上に試料溶液の供給によって微小スポット80が形成された際において、該微小スポット80の一部が突起14にかかったとき（二点鎖線参照）、該微小スポット80の表面張力によって、該微小スポット80が移動し、微小スポット80の中心位置と突起14とがほぼ一致することになる。

【0030】このように、この本実施の形態に係るDNAチップ20においては、微小スポット80が規定の位置からずれて滴下されたとしても、基板10上に形成された突起14によって規定の位置に移動し、その位置ずれが補正されることになる。

【0031】ところで、基板10上に試料溶液の供給による微小スポット80を形成してDNAチップ20を製造するには、例えば図3に示す製造工程を踏んで行われる。

【0032】即ち、基板10の表面にpoly-L-lysine層12（図2参照）を形成する前処理工程S1と、DNA断片を含む試料溶液を調整する試料調製工程S2と、得られた試料溶液を基板10上に供給する供給工程S3とを踏んでDNAチップ20が製造される。

【0033】前記試料調製工程S2は、図4に示すように、DNA断片をPCR増幅してPCR産物を調整する増幅工程S11と、得られたPCR産物を乾燥してDNA粉末とする粉末生成工程S12と、得られたDNA粉末を緩衝液に溶かす混合工程S13とを含む。

【0034】具体的に説明すると、前処理工程S1は、まず、基板10をアルカリ溶液に浸し、室温で少なくとも2時間ゆっくりと振盪する。前記アルカリ溶液は、例えばNaOHを蒸留水に溶かし、更にエタノールを加えて、完全に透明になるまで攪拌した溶液である。

【0035】その後、基板10を取り出して、蒸留水中に移し、リンスして、アルカリ溶液を除去する。次いで、蒸留水中にpoly-L-lysineを加えて調整されたpoly-L-lysine液に基板10を浸し、1時間放置する。

7

【0036】その後、基板10を取り出して、遠心機にかけて遠心し、余分なpoly-L-lysine液を除去する。次いで、基板10を40℃、5分ほど乾燥させて、表面にpoly-L-lysine層12が形成された基板10を得る。

【0037】次に、試料調製工程S2は、まず、既知のPCR機で増幅したPCR産物（増幅工程S11）に、3M sodium acetateとイソプロパノールを加え、数時間放置する。その後、このPCR産物溶液を遠心機で遠心し、DNA断片を沈殿させる。

【0038】沈殿させたDNA断片をエタノールでリンスし、遠心した後、乾燥させてDNA粉末を生成する（粉末生成工程S12）。得られたDNA粉末に×1TEバッファを加え、数時間放置して完全に溶かすことにより（混合工程S13）、試料調製工程S2を経て得られた試料溶液の濃度は1~10μg/μリットルである。なお、この後に固定化液を試料注入口52からキャビティ56内に供給するようにしてもよい。

【0039】そして、本実施の形態では、得られた試料溶液を基板10上に供給してDNAチップ20を製造する（供給工程S3）。なお、試料調製工程S2を経て得られた試料溶液に固定化液を混合するようにしてもよい。試料溶液を希釈するようにしてもよい。この場合、希釈液として水やNaClを含んだ水溶液又はポリマーを含んだ水溶液を使用することができる。

【0040】更に、この実施の形態においてDNAチップ20を製造する場合、例えば図5A~図7に示す分注装置30が有効に使用される。

【0041】この分注装置30は、図5A及び図5Bに示すように、矩形状の固定板32の上面に例えば10個のマイクロピペット34を5行2列に配列し、各列方向に整列されたマイクロピペット34群をそれぞれ固定治具36を介して固定板32に固定させた構成を有する。

【0042】マイクロピペット34は、図5C及び図6に示すように、ほぼ直方体の形状を有する基体50の上面に形成された試料注入口52と、該基体50の下面に形成された試料吐出口54と、内部に試料注入口52と試料吐出口54との間に形成されたキャビティ56と、基体50を振動させる、キャビティ56の体積を変化させたりするアクチュエータ部58とを有して構成されている。

【0043】従って、図6に示すように、前記固定板32には、マイクロピペット34の試料吐出口54に対応する箇所にそれぞれ貫通孔40が設けられている。これにより、マイクロピペット34の試料吐出口54から吐出された試料溶液が、前記貫通孔40を通じて、例えば固定板32の下に固定された基板20に供給されることになる。

【0044】このマイクロピペット34は、試料注入口52から基体50の内部にかけて開口幅の大きいほぼL字状の導入穴60が形成されている。この導入穴60と

8

キャビティ56との間には、径の小さい第1の連通孔62が形成され、試料注入口52から注入された試料溶液が導入穴60及び第1の連通孔62を通じてキャビティ56に導入されるようになっている。

【0045】キャビティ56のうち、前記第1の連通孔62とは異なる位置に、試料吐出口54に連通し、かつ、第1の連通孔62より径の大きい第2の連通孔64が形成されている。本実施の形態では、キャビティ56の下面のうち、試料注入口52寄りに第1の連通孔62を形成し、同じくキャビティ56の下面のうち、試料吐出口54に対応した位置に第2の連通孔64を形成するようにしている。

【0046】更に、この実施の形態では、基体50のうち、キャビティ56の上面が接する部分が薄肉とされ、外部応力に対して振動を受けやすい構造となっており、振動部66として機能するようになっている。振動部66の上面に前記アクチュエータ部58が形成されている。

【0047】基体50は、複数のジルコニアセラミックスのグリーンシート（第1の薄板層50A、第1のスペーサ層50B、第2の薄板層50C、第2のスペーサ層50D及び第3の薄板層50E）を積層し、一体焼成して構成されている。

【0048】つまり、基体50は、試料注入口52を構成する窓部が形成され、一部に接する振動部66を構成する薄肉の第1の薄板層50Aと、導入穴60の一部及びキャビティ56を構成する複数の窓部がそれぞれ形成された厚肉の第1のスペーサ層50Bと、導入穴60の一部、第1の連通孔62及び第2の連通孔64の一部を構成する複数の窓部がそれぞれ形成された薄肉の第2の薄板層50Cと、導入穴60の一部及び第2の連通孔64の一部を構成する複数の窓部がそれぞれ形成された厚肉の第2のスペーサ層50Dと、試料吐出口54を構成する窓部が形成された薄肉の第3の薄板層50Eとを積層し、一体焼成して構成されている。

【0049】アクチュエータ部58は、前記振動部66のほか、該振動部66上に直接形成された下部電極70と、該下部電極70上に形成された圧電層/電歪層や反強誘電体層等の圧電層72と、該圧電層72の上面に形成された上部電極74とを有して構成されている。

【0050】下部電極70と上部電極74は、図5Cに示すように、それぞれ基体50の上面に形成された複数のパッド76及び78を通じて図示しない駆動回路に電気的に接続される。

【0051】上記のような構成のマイクロピペット34によれば、上部電極74と下部電極70との間に電界が生じると、圧電層72が変形し、それに伴って振動部66が変形し、振動部66に接しているキャビティ（加圧室）56の容積が減少することとなる。

【0052】このキャビティ56の容積の減少によって

50

9

キャピティ56内に充填された試料溶液がキャピティ56に連通する試料吐出口54から所定速度で吐出され、図1に示すように、マイクロピペット34から吐出された試料溶液が顕微鏡スライドガラス等の基板50上に微小スポット80として整列固定されたDNAチップ20を作製することができる。

【0053】この場合、基板10上に形成される微小スポット80の配列ピッチより分注装置30における試料吐出口54の配列ピッチが大きいので、分注装置30での供給位置をずらしながら試料溶液を供給することになる。

【0054】このとき、分注装置30のずらし幅や試料吐出口54の配列ピッチにばらつきがあったとしても、試料溶液の供給による微小スポット80は、基板10上に形成された突起14によって、規定の位置にそれぞれ移動し、その位置ずれが補正されることになる。そのため、この実施の形態においては、基板10上に形成される多数の微小スポット80の配列状態を規定の配列ピッチに沿った状態にさせることができる。

【0055】更に、前記位置補正後、基板10に水分を付加することで、微小スポット80を移動しやすくし、微小スポット80を突起14に移動させることも好ましい。また、突起14に集結した微小スポット80の断面形状を半球状に修正できる効果も期待でき好ましい。

【0056】なお、アクチュエータ部58の駆動によって、キャピティ56の容積が減少する構造としては、いわゆるインクジェット方式の装置構造を採用することができる(特開平6-40030号公報参照)。

【0057】そして、キャピティ(加圧室)56は、DNA断片などを含む試料溶液が層流で移動するような流路方式に形成されていることが好ましい。

【0058】つまり、キャピティ56の寸法は、試料の種類、作成する液滴の大きさ、形成密度より異なるが、例えば、塩基対1~10000程度のDNA断片を1 μ g/ μ リットルの濃度で緩衝液(TEバッファ)に分散させた試料を数百 μ mピッチで数百 μ m液滴径の滴下を行う場合においては、図7に示すように、キャピティ長(L)は、1~5mm、キャピティ幅(W)は、0.1~1mm、キャピティ深さ(D)は、0.1~0.5mmが好ましい。またキャピティ56の内壁には、流れを乱す突起物がないように滑らかであることがよく、その材質は、試料溶液と親和性のよいセラミックスからなることが好ましい。

【0059】このような形状にすることにより、キャピティ56を試料注入口52から試料吐出口54に至る流路の一部として、試料注入口52から導入穴60、第1の連通孔62を経てキャピティ56内に移動する試料溶液の流れを乱すことなく試料吐出口54に導くことができる。

【0060】ところで、図5Aに示すように、固定板3

10

2の上面には、マイクロピペット34を位置決め固定するための複数のピン38が設けられている。マイクロピペット34を固定板32上に固定する場合は、マイクロピペット34の基体50の両側に設けられた位置決め用孔90(図5C参照)に固定板32のピン38を挿入させながら、マイクロピペット34を固定板32に載置することで、自動的に複数のマイクロピペット34が所定の並びで配列位置決めされることになる。

【0061】また、各固定治具36は、複数のマイクロピペット34を固定板32に押さえ付ける押さえ板100を有する。押さえ板100の両端には、それぞれネジ102が挿通される挿通孔が形成され、この挿通孔にネジ102を挿通して、固定板32におび込むことにより、前記押さえ板100で複数のマイクロピペット34を一度に固定板32に押さえ付けることができるようになっている。そして、1つの押さえ板100で押さえ付けた複数のマイクロピペット34で1つのユニットが構成される。図5Aの例では列方向に配列された5つのマイクロピペット34で1つのユニットが構成された例を示している。

【0062】また、押さえ板100には、複数のマイクロピペット34を押さえ付けたときに、各マイクロピペット34の試料注入口52に対応する箇所それぞれ試料溶液を供給するための導入孔104(図5B参照)が形成されており、各導入孔104の先端部にはそれぞれ試料溶液を導入孔104に導くためのチューブ106が保持されている。

【0063】なお、押さえ板100の幅は、配線作業の効率化を考慮すると、複数のマイクロピペット34を固定板32に押さえ付けた際に、アクチュエータ部58の各電極70及び74につながるパッド76及び78が上方に露出するような寸法であることが好ましい。

【0064】このように、上述の分注装置30は、試料注入口52及び試料吐出口54を有するマイクロピペット34の複数個をそれぞれ試料吐出口54を下方向に向けた状態で立設させて構成されている。

【0065】即ち、各マイクロピペット34は、それぞれの試料注入口52を上側とし、試料吐出口54を下側とし、かつ、各試料吐出口54が縦横に配列配置されて、試料吐出口54からそれぞれ種類の異なる試料溶液が吐出されるようになっている。

【0066】このような構成を有する分注装置30において、各試料注入口52に対応してそれぞれ種類の異なる試料溶液を供給する方法としては、図8に示すように、例えば多数の断面ほぼV字状の凹部(窪め部)110が配列されたカートリッジ112を使用する方法がある。この方法は、カートリッジ112の各凹部110にそれぞれ種類の異なる試料溶液を入れ、該カートリッジ112を各凹部110とチューブ106とがそれぞれ対応するように取り付け、針等で各凹部110の底を開封

することによって、各凹部110にあった試料溶液をチューブ106を介して各マイクロピペット34に供給する方法等が考えられる。

【0067】また、チューブ106を用いない場合は、カートリッジ112を各凹部110と固定治具36の各導入孔104とがそれぞれ対応するように取り付け、針等で各凹部110の底を開封することによって、各凹部110にあった試料溶液を導入孔104を介して各マイクロピペット34に供給する方法のほか、予め、固定治具36における各導入孔104の近傍に針等を形成し、カートリッジ112を固定治具36に取り付けると同時に各凹部110が開封されるようにしてもよい。

【0068】なお、開封後に気体等を圧送し、試料溶液を強制的に押し出す機構を加えてもよい。また、各マイクロピペット34の基体50内に形成された試料注入口52から試料吐出口54に至る空間を洗浄する機構を備えることは、数千年から数万種類という種類のDNA断片などを汚染なく、しかも純度よく微小スポット80として吐出するために望ましい。

【0069】図5Aの例では、押え板100の両端をネジ102で固定板20に締め付けられることで行っているが、押え板100の固定方法は、ネジ、バネ等で機械的に押え板100を押さえるためによりよい。

【0070】また、マイクロピペット34を構成する基体50は、上述したように、セラミックスで形成されており、例えば、安定化ジルコニアや部分安定化ジルコニア、アルミナ、マグネシア、窒化珪素等を用いることができる。

【0071】このうち、安定化/部分安定化ジルコニアは、薄板においても機械的強度が大きいこと、靱性が高いこと、圧電層72や電極材との反応性が小さいことから最も好適に採用される。

【0072】そして、基体50等の材料として安定化/部分安定化ジルコニアを使用する場合には、少なくとも、アクチュエータ部58が形成される部分(振動部66)には、アルミナあるいはチタニア等の添加物が含有されることが好ましい。

【0073】また、アクチュエータ部58を構成する圧電層72は、圧電セラミックスとして、例えば、ジルコン酸鉛、チタン酸鉛、マグネシウムニオブ酸鉛、マグネシウムタンタル酸鉛、ニッケルニオブ酸鉛、亜鉛ニオブ酸鉛、マンガニウム酸鉛、アンチモン酸鉛、マンガニウムタンタル酸鉛、コバルトニオブ酸鉛、チタン酸バリウム等やこれらのいずれかを組み合わせた成分を含有する複合セラミックスを用いることができるが、本実施の形態においては、ジルコン酸鉛とチタン酸鉛及びマグネシウムニオブ酸鉛からなる成分を主成分とする材料が好適に用いられる。

【0074】これは、このような材料が、高い電気機械結合係数と圧電定数を有することに加え、圧電層72の

焼結時における基体材料との反応性が小さく、所定の組成のものを安定に形成することができることに基づくからである。

【0075】更に、本実施の形態では、前記圧電セラミックスに、ランタン、カルシウム、ストロンチウム、モリブデン、タンタムステン、バリウム、ニオブ、亜鉛、ニッケル、マンガン、セリウム、カドミウム、クロム、コバルト、アンチモン、鉄、イットリウム、タンタル、リチウム、ビスマス、スズ等の酸化物、もしくはこれらいずれかの組合せ、又は他の化合物を適宜、添加したセラミックスを用いてもよい。

【0076】例えば、ジルコン酸鉛とチタン酸鉛及びマグネシウムニオブ酸鉛を主成分とし、これにランタンやストロンチウムを含有するセラミックスを用いることもまた好ましい。

【0077】一方、アクチュエータ部58における上部電極74及び下部電極70は、室温で、固体であって導電性の金属で構成されていることが好ましく、例えば、アルミニウム、チタン、クロム、鉄、コバルト、ニッケル、銅、亜鉛、ニオブ、モリブデン、ルチニウム、パラジウム、ロジウム、銀、スズ、タンタル、タンタムステン、イリジウム、白金、金、鉛等の金属単体あるいはこれらのいずれかを組み合わせた合金が用いられ、更に、これらに圧電層72や基体50と同じ材料を分散させたサーメット材料を用いてもよい。

【0078】次に、この分注装置30を使ってDNAチップ20を製造する第1及び第2の方法について図9及び図10を参照しながら説明する。

【0079】まず、第1の方法は、図9に示すように、各チューブ106からそれぞれ固定治具36の導入孔104を介して各マイクロピペット34のキャピティ56内にそれぞれ種類の異なる試料溶液を充填し、次いで、各アクチュエータ部58を駆動して、各マイクロピペット34の試料吐出口54から試料溶液を吐出させる。キャピティ56内に溶液を充填する方法は、試料注入口52より導入された溶液の毛細管力により注入してもよいが、試料吐出口54から真空吸引して充填する方法が確実である。

【0080】ここで、アクチュエータ部58の各電極70及び74に印加する電圧波形のうち、アクチュエータ部58がオン動作して、キャピティ56の容積を減少させる場合、各電極70及び74にはパルス的な電圧が印加されることになる。この場合、パルスの振幅を上げることによって、振動部66の変形が大きくなり、その分、試料溶液の吐出量も多くなる。また、一定期間に複数のパルスを印加する場合は、パルス周期を短くし、各パルスの振幅を小さくすることによって、少量の試料溶液を多数吐出させることができる。

【0081】このとき、供給位置を適宜変更することによって、供給された試料溶液が基板10上で組み合わせられ

て(合体)、1つのスポット径を有する試料溶液となるが、供給する試料溶液の種類に応じて、供給数、供給位置及び1回の供給量を制御することで、基板10上に形成されるスポット径の均一化を図ることができる。

【0082】次に、分注装置30を使った第2の方法について説明する。この第2の方法は、図10に示すように、各チューブ106からそれぞれ固定治具36の導入孔104を介して各マイクロベット34のキャピティ56内に緩衝液やNaClを含んだ水溶液、ポリマーを含んだ水溶液などの置換液を充填し、次いで、試料を試料注入口52からキャピティ56内に層流置換させながら注入した後、置換の完了を待つ。その後、アクチュエータ部58を駆動させて、試料溶液を基板10上に吐出供給させる。

【0083】キャピティ56内における試料の層流置換完了は、キャピティ56内の流体特性の変化を検知することにより把握することが好ましい。

【0084】なお、キャピティ56内の置換液と試料の置換は層流で行われることが好ましいが、試料の種類が変わった場合や、液体の移動速度が非常に速い場合においては、キャピティ56のうち、第1の連通孔62の近辺部分は、必ずしも層流でなくともよい。この場合、試料と置換液の混合により試料溶液のバージ量は増大するが、キャピティ56内の流体特性の変化を検知して置換完了を判断することにより、バージ量の増大を最小に抑えることができる。

【0085】ここで、キャピティ56内の流体特性の変化は、アクチュエータ部58に振動を励起する程度の電圧を印加し、その振動に伴う電気的定数の変化を検出することにより把握する。このような流体特性の変化の検知については、例えば、特開平8-201265号公報に開示されている。

【0086】具体的には、アクチュエータ部58に対して、所定の間隔で、吐出駆動用の電源からの電気的接続をリレーで切り離し、同時に、共振周波数を測定する手段をリレーにより接続し、その時点でのインピーダンスあるいは共振特性、例えば共振周波数や減衰率等を電気的に測定する。

【0087】これにより、液体の粘度、比重等が目的の試料(DNA断片などを含む液体)であるかどうかを把握することができる。即ち、各マイクロベット34においては、マイクロベット34自体がセンサとして機能するため、マイクロベット34の構成も単純化することができる。

【0088】そして、アクチュエータ部58を、求められたスポット径に応じた液滴量に対応した駆動条件にて駆動し、試料溶液の供給を繰り返すことにより、DNAチップ20を製造する。通常、1つの微小スポット80を形成するのに、マイクロベット34から1〜数百滴を吐出して行う。

【0089】なお、試料注入口52中の試料の量が減少した際には、緩衝液を追加し、流路中に気泡が入らないようにして、吐出を続けることにより、試料溶液をマイクロベット34内に残すことなく使い切ることができる。試料から置換液への置換の完了(試料吐出の終了)は、同じく、アクチュエータ部58を用いた液体の粘度、比重の検出で行う。

【0090】また、使用する置換液、試料としては、予め脱気操作を通して溶液中の溶解気体を取り除いたものを使用することが好ましい。そのような溶液を用いることにより、マイクロベット34の流路内に溶液を充填する際に、流路途中で気泡がひっかり充填が不備になる場合でも、その気泡を溶液中に溶かし込んで不具合を回避できると共に、吐出の途中において、流体中に気泡が発生することがなく、吐出不具合を生じることもない。

【0091】また、上述の第2の方法において、試料溶液を吐出しつつ、緩衝液やNaClを含んだ水溶液、ポリマーを含んだ水溶液のような置換液を試料注入口52からキャピティ56に注入し、キャピティ56内に残留する試料溶液を完全に吐出し、次の試料注入に備えることができる。

【0092】そして、キャピティ56内に試料溶液が残留しているかどうか(試料溶液として吐出できるかどうか)を検知するのにも、同じく、キャピティ56内の流体特性の変化を検知することにより把握できる。この場合、置換完了検出機構により使用に供しない試料のバージ量を極めて少なくすることができると共に、試料溶液の使用効率を向上させることができる。

【0093】また、試料を試料注入口52からキャピティ56に充填する際に、アクチュエータ部58を駆動させながら試料を試料注入口52からキャピティ56内に置換させてもよい。この場合、予め安価な置換液によりキャピティ56内を確実に置換でき、その結果、吐出不良が発生することを完全に防止でき、高価な試料を効率よく吐出できる。

【0094】更に、キャピティ56内に緩衝液やNaClを含んだ水溶液、ポリマーを含んだ水溶液などの置換液を充填し、キャピティ56内と試料注入口52内にある置換液の量を調整して所定の量にし、次に、試料溶液を試料注入口52から所定の液量だけ注入した後、アクチュエータ部58を所定のバリス数だけ駆動し、キャピティ56内と試料注入口52内にある置換液の量だけ排出してもよい。

【0095】そうすることにより、キャピティ56内と試料注入口52内にある置換液の量だけ正確に排出され、無駄なく試料溶液の充填を完了することができる。

【0096】このように、本実施の形態に係るDNAチップ20においては、基板10に、微小スポット80の位置ずれを自動的に補正する位置ずれ補正手段としての

突起14を設けるようにしたので、基板10上に試料溶液を供給した際に、その供給位置が規定の位置からずれていたとしても、前記試料溶液の供給による微小スポット80は、突起14によって前記規定の位置に移動し、その位置ずれが補正されることになる。

【0097】このように、本実施の形態に係るDNAチップ20及びその製造方法においては、分注装置30のずらし幅や試料吐出口54の配列ピッチにばらつきがあったとしても、基板10上に形成される多数の微小スポット80の配列状態を規定の配列ピッチに沿った状態にさせることができ、DNAチップ20の品質の向上並びに歩留まりの向上を図ることができる。

【0098】次に、基板10に設けられる位置ずれ補正手段の変形例について図11～図19Bを参照しながら説明する。

【0099】第1の変形例は、図11に示すように、基板10のうち、微小スポット80が形成されるべき位置に親水性領域Z1を形成し、それ以外の部分に撥水性領域Z2を形成した点で異なる。具体的には、微小スポット80が形成されるべき位置以外の部分に撥水性の膜16を形成することで達成される。撥水性の膜16としては、例えばSiコート、フッ素樹脂等を使用することができる。

【0100】これによれば、図11に示すように、基板10上に試料溶液の供給によって微小スポット80が形成された際において、該微小スポット80の一部が撥水性の膜16にかかったとき（二点鎖線参照）、該微小スポット80の表面張力と膜16の撥水作用によって、該微小スポット80が移動し、規定の位置に微小スポット80の中心を位置決めできる。この場合、微小スポット80の一部が撥水性の膜16にかかったときでも、膜16が撥水性のため、試料溶液が移動した後の痕跡がなく、固定化後のスポット形状が親水性の部分のみの形状になり、形状のばらつきが低減される。

【0101】第2の変形例は、図12に示すように、前記撥水性の膜16において、親水性領域Z1の周辺部のみには該親水性領域Z1に向かって下り傾斜とされたテーパー面16aを設けた例を示す。この場合、一点鎖線に示すように、撥水性の膜16に微小スポット80がかかったときでも、撥水性の膜16の撥水作用と、微小スポット80の表面張力と、テーパー面の傾斜による重力で、前記微小スポット80は、該微小スポット80が形成されるべき位置に移動し、規定の位置に微小スポット80の中心を位置決めすることができる。

【0102】第3の変形例は、図13に示すように、基板10のうち、微小スポット80が形成されるべき位置に凹部18を形成した点で異なる。

【0103】これによれば、図13に示すように、基板80上に試料溶液の供給によって微小スポット80が形成された際において、該微小スポット80の一部が凹部

18の肩部分にかかったとき（二点鎖線参照）、該微小スポット80の表面張力によって、該微小スポット80が移動し、凹部18内に微小スポット80を位置させることができる。この場合、凹部18内に試料溶液が入ると、試料膜厚が均一化され、スポットの厚みのばらつきが低減できる。その結果、スポットが発する蛍光を検査する際の感度ばらつき、感度劣化を抑制できるという利点がある。

【0104】第4の変形例は、図14に示すように、微小スポット80が形成される部分の周辺部に複数の凸部150を形成する、あるいは前記周辺部に環状の凸部152を形成した例を示す。環状の凸部152の場合には、微小スポット80が形成される部分がクレータ状に形成されることになる。この第4の変形例の場合、上述した第3の変形例による効果に加えて、所定位置（微小スポット80が形成されるべき位置）に微小スポット80が集まりやすくなるという効果がある。特に、凸部150や152の裾の部分等をなだらかな傾斜面154に形成すれば、前記効果は更に顕著となる。

【0105】上述のような凸部150や152は、プリンタにおいて実用化されているインクジェット方式で、噴射圧力やジェットノズルと基板12との距離等を適宜調整して、スポッティングすることにより、基板12上に形成することができる。

【0106】第5の変形例は、図15に示すように、基板10のうち、微小スポット80が形成されるべき部分とそれ以外の部分とで表面状態を異ならせた点で異なる。

【0107】これによれば、図15に示すように、基板10上に試料溶液の供給によって微小スポット80が形成された際において、該微小スポット80の一部が粗面22以外の部分にかかったとき（二点鎖線参照）、該微小スポット80の表面張力によって、該微小スポット80が移動し、規定の位置に微小スポット80の中心を位置させることができる。この場合、上述した第1の変形例と同様に、該微小スポット80の一部が粗面22以外にかかったときでも、粗面22以外の部分は、試料が移動した後の痕跡がなく、固定化後のスポット形状が粗面22のみの形状になり、形状のばらつきが低減される。

また、微小スポット80は、接触する面が粗面であるため、接触面積が大きく、基板10に強固に固定され、スポッティング後の固定化時において、試料溶液が流れ出すことを低減できる。

【0108】上述の第2、第3及び第5の変形例でのテーパー面16aの形成並びに凹部18の形成や粗面22の形成など、表面状態の変更は、プラズマ加工、レーザ加工、切削加工等の加工によって一度に大量の基板を処理することができるため、安価に実施でき好ましい。

【0109】第6の変形例は、電界をかけて位置ずれ補正を行うようにしたものである。具体的には、例えば図

17

16に示すように、基板10におけるpoly-L-lysine層12の下層において、微小スポット80を形成すべき箇所に対応する部分に、金属膜による多数の電極パターン130を形成し、更にその下層に各電極パターン130に共通とされた金属膜による共通電極パターン132を形成する。

【0110】そして、共通電極パターン132と例えば接地間に電源134を接続し、各電極パターン130を例えば+側に帯電させる。この状態で、基板10上に試料溶液の供給によって微小スポット80が形成されると、該微小スポット80を構成する試料溶液は一侧に帯電しているため、微小スポット80の一部が電極パターン130上にかかったとき(二点鎖線参照)、電界の吸引力によって、該微小スポット80が電極パターン130上に移動し、規定の位置に微小スポット80の中心が位置することになる。

【0111】また、電界強度を上げれば、各マイクロピット34の試料吐出口54から吐出された液滴140は、空中において、その飛行方向が対応する電極パターン130に向かうべく補正され、前記液滴140による微小スポット80は対応する電極パターン130上に正確に落下することとなる。この場合、液滴140が基板10の表面で移動することがないため、液滴移動による痕跡がなく、スポット形状を安定化(均一化)できるとい

う効果がある。
【0112】第7の変形例は、図17に示すように、上述した第6の変形例(図16参照)とはほぼ同じ原理であるが、基板10が設置固定されるステージ142に所定の電極パターン130及び132を設けたものである。この場合、基板10に電極パターン130及び132を設ける必要がないため、安価に実施できるという利点がある。

【0113】第8の変形例は、図18に示すように、基板10を例えばガラスで構成し、更に、該基板10内に所定の電極パターン130及び132を形成し、特に、電極パターン130を基板10の表面に露出させた例である。電極パターン130及び132への電圧供給は、ステージ142に形成された電極144を通じて行われる。

【0114】この第8の変形例においては、基板10のガラス表面は撥水性を呈し、ガラス表面に露出した電極パターン130は親水性を呈するため、上述した第1の変形例と同様に、例えば図19Aに示すように、基板10上に試料溶液の供給によって微小スポット80が形成された際において、該微小スポット80の一部が撥水性のガラス表面にかかったとき(二点鎖線参照)、該微小スポット80の表面張力とガラス表面の撥水作用によって、該微小スポット80が移動し、規定の位置に微小スポット80の中心を位置決めすることができる。この場合、微小スポット80の一部がガラス表面にかかったと

18

きでも、ガラス表面が撥水性のため、試料溶液が移動した後の痕跡がなく、固定化後のスポット形状が親水性の部分のみの形状になり、形状のばつつきが低減される。

【0115】また、電界強度を上げれば、図19Bに示すように、上述した第6の変形例と同様に、落下過程にある液滴140は、空中において、その飛行方向が対応する電極パターン130に向かうべく補正され、前記液滴140による微小スポット80は対応する電極パターン130上に正確に落下することとなる。この場合、液滴140が基板10の表面で移動することがないため、液滴移動による痕跡がなく、スポット形状を安定化(均一化)できるとい効果がある。

【0116】このように、第8の変形例においては、上述した第1の変形例と第6の変形例の効果を含む持ったものとなり、より好ましい。なお、基板10の材質は、ガラスに限ることなく、セラミックス、プラスチック等の絶縁物であってもよい。

【0117】このように、第1〜第8の変形例に係る位置ずれ補正手段を用いても、上述した本実施の形態と同様に、分注装置30のずらし幅や試料吐出口54の配列ピッチにばらつきがあったとしても、基板10上に形成される多数の微小スポット80の配列状態を規定の配列ピッチに沿った状態にさせることができ、DNAチップ20の品質の向上並びに歩留まりの向上を図ることができる。

【0118】なお、この発明に係るDNAチップ及びその製造方法は、上述の実施の形態に限らず、この発明の要旨を逸脱することなく、種々の構成を採り得ることはもちろんである。

【0119】**【発明の効果】**以上説明したように、本発明に係るDNAによれば、分注装置のずらし幅や滴下ノズルの配列ピッチにばらつきがあったとしても、基板上に形成される多数の微小スポットの配列状態を規定の配列ピッチに沿った状態にさせることができる。

【0120】また、本発明に係るDNAの製造方法によれば、分注装置のずらし幅や滴下ノズルの配列ピッチにばらつきがあったとしても、基板上に形成される多数の微小スポットの配列状態を規定の配列ピッチに沿った状態にさせることができ、DNAチップの品質の向上並びに歩留まりの向上を図ることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本実施の形態に係るDNAチップ(本実施の形態に係る製造方法で製造されるDNAチップ)を示す斜視図である。

【図2】本実施の形態に係るDNAチップの構成を示す拡大断面図である。

【図3】本実施の形態に係るDNAチップの製造方法を示す工程ブロック図である。

【図4】試料調製工程の内訳を示す工程ブロック図であ

50

る。

【図5】図5Aは第1の実施の形態に係るDNAチップの製造方法で使用する分注装置の構成を示す平面図であり、図5Bはその正面図であり、図5Cは、分注装置を構成する1つのマイクロピペットを示す拡大平面図である。

【図6】マイクロピペットの構成を示す縦断面図である。

【図7】マイクロピペットの基体内に形成されるキャビティを含む流路の形状を示す斜視図である。

【図8】カートリッジと共に示す分注装置の分解斜視図である。

【図9】分注装置を使用してDNAチップを製造する場合の第1の方法を示す説明図である。

【図10】分注装置を使用してDNAチップを製造する場合の第2の方法を示す説明図である。

【図11】第1の変形例に係る位置ずれ補正手段を示す断面図である。

【図12】第2の変形例に係る位置ずれ補正手段を示す断面図である。

【図13】第3の変形例に係る位置ずれ補正手段を示す断面図である。

【図14】第4の変形例に係る位置ずれ補正手段を示す断面図である。

【図15】第5の変形例に係る位置ずれ補正手段を示す断面図である。

【図16】第6の変形例に係る位置ずれ補正手段を示す断面図である。

* 【図17】第7の変形例に係る位置ずれ補正手段を示す断面図である。

【図18】第8の変形例に係る位置ずれ補正手段を示す断面図である。

【図19】図19Aは第8の変形例に係る位置ずれ補正手段において第1の変形例と同様の効果を奏することを示す図であり、図19Bは第8の変形例に係る位置ずれ補正手段において第6の変形例と同様の効果を奏することを示す図である。

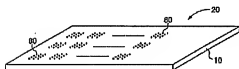
10 【符号の説明】

- | | |
|-------------|-------------------|
| 10…基板 | 12…poly-L-lysine層 |
| 14…突起 | 16…撥水性の膜 |
| 18…凹部 | 20…DNAチップ |
| 22…粗面 | 30…分注装置 |
| 34…マイクロピペット | 54…試料吐出口 |
| 58…アクチュエータ部 | 80…微小スポット |
| 20 | 130…電極パターン |
| 130…電極パターン | 132…共通電極 |
| 134…電源 | 140…液滴 |
| 142…ステージ | S1…前処理工程 |
| S2…試料調製工程 | S3…供給工程 |
| S11…増幅工程 | S12…粉末生成 |
| 工程 | |
| S13…混合工程 | |

*

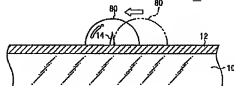
【図1】

FIG. 1



【図2】

FIG. 2



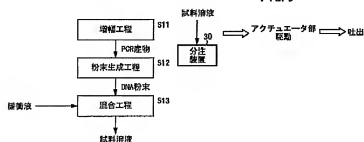
【図3】

FIG. 3



【図4】

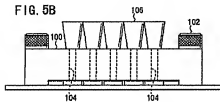
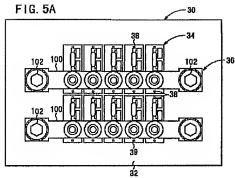
FIG. 4



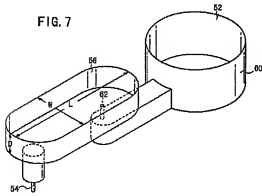
【図9】

FIG. 9

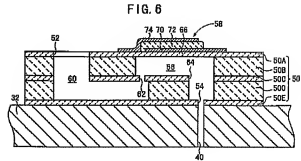
【図5】



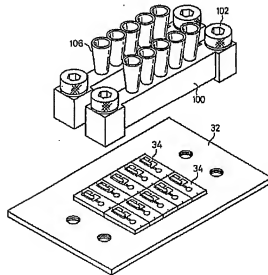
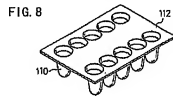
【図7】



【図6】

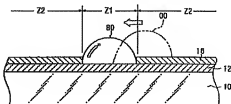


【図8】



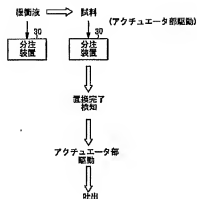
【図11】

FIG. 11



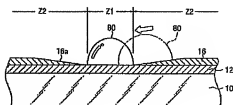
【図10】

FIG. 10



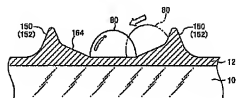
【図12】

FIG. 12



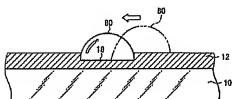
【図14】

FIG. 14



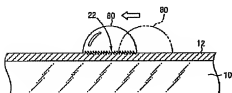
【図13】

FIG. 13



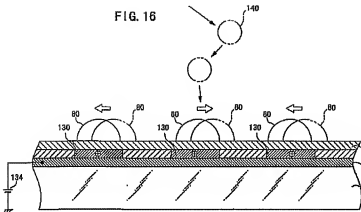
【図15】

FIG. 15



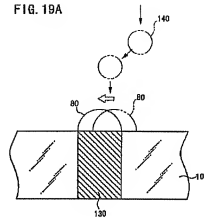
【図16】

FIG. 16



【図19】

FIG. 19A



【図17】

FIG. 17

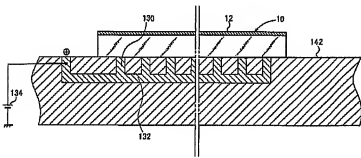
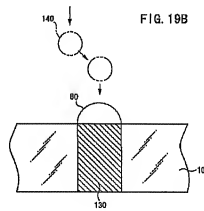
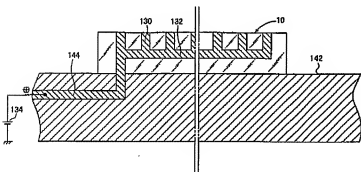


FIG. 19B



【図18】

FIG. 18



フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	タームコード(参考)
G 0 1 N 35/10		C 1 2 N 15/00	F
37/00	1 0 2	G 0 1 N 35/06	A
(72)発明者 武内 幸久		F ターム(参考) 2G058 AA09 CC09 EA03 EA11 EB00	
愛知県名古屋市瑞穂区須田町2番56号 日		ED16	
本碍子株式会社内		4B024 AA19 CA04 HA12 HA19	
		4B029 AA21 AA23	